

表 2 樟芝菌粉对急性乙醇性肝损伤大鼠肝脏 MDA、GSH 水平和 GPx、GR 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 2 Effect of *A. camphorata* powder on hepatic MDA, GSH levels, and GPx, and GR activities

in acute ethanol-induced liver damage of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	MDA/(nmol · mg ⁻¹)	GSH/(μ mol · g ⁻¹)	GPx/(μ mol · min ⁻¹ · mg ⁻¹)	GR/(mmol · min ⁻¹ · g ⁻¹)
正常	—	0.89 ± 0.12	1.52 ± 0.14	43.9 ± 0.9	9.8 ± 0.2
樟芝菌粉对照	1 000	0.71 ± 0.13	1.56 ± 0.71	45.6 ± 0.8	10.9 ± 0.4
模型	—	1.78 ± 0.19 [△]	0.88 ± 0.15 [△]	34.2 ± 0.8 [△]	6.5 ± 0.1 [△]
水飞蓟素	200	0.82 ± 0.12 ^{**}	1.35 ± 0.23 [*]	46.5 ± 1.2 ^{**}	8.7 ± 0.5 ^{**}
樟芝菌粉	500	0.95 ± 0.14 ^{**}	1.38 ± 0.21 [*]	39.6 ± 1.1 [*]	7.4 ± 0.5 ^{**}
	1 000	1.03 ± 0.13 ^{**}	1.33 ± 0.15 [*]	42.7 ± 1.3 ^{**}	8.1 ± 0.3 ^{**}

与正常组比较: [△]P<0.05; 与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

[△]P<0.05 vs normal group; *P<0.05 **P<0.01 vs model group

重程度。细胞内,尤其是线粒体上的 GSH 是能起到阻碍乙醇性肝病发展的体内抗氧化系统中的主要抗氧化剂。同时,肝脏 GPx 和 GR 活性也与谷胱甘肽的水平有关。本实验证实乙醇可使小鼠血清 ALT 和 AST 活性明显上升,同时肝组织 MDA 水平明显增加,GSH 水平减小,GPx 和 GR 活性降低。樟芝菌粉高、低剂量均可显著降低小鼠血清 AST、ALT、ALP、BIL 和 TG 水平,在某些指标上 (AST、ALT),其保护程度可与水飞蓟素相比。同时樟芝菌粉能降低肝组织 MDA 水平,提示具有明显的抗脂质过氧化作用,其作用机制与上调肝脏 GSH 水平以及 GSH 相关酶系 GPx 和 GR 的活性有关。

值得注意的是樟芝菌粉高剂量组在某些指标方面,如 ALT、ALP、TG、MDA 等,其作用效果没有低剂量组好,此结果表明樟芝菌粉预防急性乙醇性肝损伤作用没有剂量依赖性。樟芝中主要成分有甾体、三萜类化合物、多糖、倍半萜内酯、酚和二酚类衍生物等,其中发挥保肝作用的有效成分及最佳剂量有待进一步研究。

References:

[1] Wu S H, Ryvarde L, Chang T T. *Antrodia camphorata*

("niu-chang-chih"), new combination of a medicinal fungus in Taiwan [J]. *Bot Bull Acad Sin*, 1997, 38; 273-275.

[2] Lee I H, Huang R L, Chen C T, et al. *Antrodia camphorata* polysaccharides exhibit anti-hepatitis B virus effects [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2002, 209; 63-67.
[3] Song T Y, Hsu S L, Yen G C. Induction of apoptosis in human hepatoma cells by mycelia of *Antrodia camphorata* in submerged culture [J]. *J Ethnopharm*, 2005, 100; 158-167.
[4] Song T Y, Yen G C. Antioxidant properties of *Antrodia camphorata* in submerged culture [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50; 3322-3327.
[5] Hsiao G, Shen M Y, Lin K H, et al. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Antrodia camphorata* extract [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51; 3302-3308.
[6] Song T P, Yen G C. Protective effects of fermented filtrate from *Antrodia camphorata* in culture against CCL₄-induced hepatic toxicity in rats [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51; 1571-1577.
[7] Ao Z H, Fu H Z, Zou X L. Large scale Zhangzhi fungus deep fermenting process [P]. CN: 1456661, 2003-11-19.
[8] Sedlak J, Lindsay R H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulphydryl groups in tissue with Ellman's reagent [J]. *Anal Biochem*, 1968, 25; 192-205.
[9] Ishii H, Kurose I, Kato S. Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stress [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 1997, 12; 272-282.
[10] Cederbaum A I. Role of lipid peroxidation and oxidative stress in alcohol toxicity [J]. *Free Radic Biol Med*, 1989, 7; 537-539.

云南重楼提取物及化学成分的抗肿瘤活性研究

张兰天¹, 左予桐¹, 高文远¹, 张富庚¹, 陈海霞¹, 段宏泉^{2*}

(1. 天津大学药物与科学技术学院, 天津 300072; 2. 天津医科大学药学院, 天津 300070)

云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yun-nanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 为百合科重楼属植物, 分布于云南、四川、贵州等地^[1], 其干燥根茎具

有止血、免疫调节、心血管作用^[2]等药理活性, 尤其在抗肿瘤方面, 已经作为云南白药、楼莲胶囊、博尔宁、金复康等多种成药的组成成分之一, 用于治疗肝

收稿日期: 2006-08-10

基金项目: 天津医科大学科研基金 (035200026)

* 通讯作者 段宏泉 Tel: (022)23542838 Fax: (022) 23542838 E-mail: duanhq@tjmu. jmu. edu. cn

癌、肺癌、喉癌、宫颈癌等病症。云南重楼的主要成分为甾体皂苷^[3~7],并含有氨基酸、甾酮、蜕皮激素、黄酮苷等化合物^[8,9],以往文献较多侧重于化学成分方面的研究,与药理作用相结合,特别是化学单体水平上的抗癌活性研究还极少。本实验以人宫颈癌 HeLa 细胞、小鼠成纤维 L929 细胞对云南重楼提取物及 8 个化合物进行抗肿瘤活性研究,判明了有效部位及化合物 III、IV 和 VIII 的抗肿瘤活性最强。

1 材料

1.1 药材及药物:云南重楼由中国科学院昆明植物研究所提供,刘锡葵研究员鉴定。

1.2 仪器与试剂:芬兰 LABSYSTEMS Multiskan MS 酶标仪;美国 REVCO CO₂培养箱;胎牛血清为 Heclone 公司产品;RPMI-1640 为 Gibco 公司产品;MTT 和 DMSO 为 Sigma 公司产品。

1.3 细胞株:人宫颈癌 HeLa 细胞和小鼠成纤维 L929 细胞均为天津市医药科学研究所提供。

2 方法

2.1 提取分离及纯化:重楼药材(5 kg)粉碎后经 70% 乙醇加热回流提取,滤液减压浓缩得到浸膏 730 g,依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇溶剂萃取得到石油醚提取物 19 g,醋酸乙酯提取物 97 g,正丁醇提取物 180 g。各提取物经硅胶柱色谱、凝胶色谱和制备 HPLC 分离、纯化,从醋酸乙酯提取物中分离得化合物 I (9.1 mg),化合物 III (12.9 mg),化合物 IV (34.5 mg),化合物 V (123.5 mg);从正丁醇提取物中分离得到化合物 VI (20.7 mg),化合物 VII (9.4 mg),化合物 VIII (16.2 mg),化合物 IX (74.9 mg)。化合物 I ~ VIII 均经制备 HPLC 纯化得到,质量分数 ≥ 99%。化合物 I ~ VIII 见表 1。

表 1 云南重楼中的化合物

Table 1 Compounds from *P. polyphylla* var. *yunnanensis*

编号	化合物
I	falcarindiol
II	β-蜕皮激素
III	偏诺皂苷元-3-O-α-阿拉伯糖(1→4)-[α-L-吡喃鼠李糖(1→2)]-β-D-吡喃葡萄糖苷
IV	薯蓣皂苷元-α-L-吡喃鼠李糖(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷
V	薯蓣皂苷元-β-D-吡喃葡萄糖苷
VI	偏诺皂苷元-3-O-α-阿拉伯糖(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖苷
VII	薯蓣皂苷元-α-L-吡喃鼠李糖(1→4)-β-D-吡喃葡萄糖苷
VIII	薯蓣皂苷元 dioscin

2.2 云南重楼各提取物和单体化合物抗肿瘤作用:研究采用 MTT 法。取对数生长期的宫颈癌 HeLa 细胞和小鼠成纤维 L929 细胞,用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基配制成 5 × 10⁴/mL 的细胞悬液,按每孔 180 μL 接种于 96 孔板中,在

37 °C、5% CO₂条件下培养 24 h 后每孔加入样品液 20 μL。待测样品用 DMSO 溶解(DMSO 体积分数 ≤ 0.1%),浸膏样品的质量浓度分别为 500、250、125、62.5 μg/mL,每个浓度平行 6 孔;化合物单体样品的质量浓度分别为 30、10 μg/mL,每个浓度平行 6 孔;样品的每个浓度均设置 6 孔为空白对照,每孔加入 20 μL 的 RPMI-1640 培养液。培养 72 h 后,小心吸去上清液,每孔加入以无血清培养液新鲜配制的 1 mg/mL MTT,37 °C 温育 4 h,弃去上清液,每孔加入 150 μL DMSO,在 570 nm 处测定吸光度(A)值。取 6 孔平均值,按公式:细胞增殖抑制率 = [(1 - 加药细胞 A 值/对照细胞 A 值) × 100%],计算每个质量浓度下的细胞增殖抑制率。

3 结果

3.1 云南重楼各提取部位的抗肿瘤活性:初步筛选显示,醋酸乙酯和正丁醇提取物在各个质量浓度范围对肿瘤细胞均有较强的抑制作用。石油醚提取物在较高质量浓度下仅有一定的生物活性(表 2)。

表 2 云南重楼各提取物对 HeLa 细胞和 L929 细胞的增殖抑制作用 (n=6)

Table 2 Proliferation inhibition of extracts from *P. polyphylla* var. *yunnanensis* on HeLa cells and L929 cells (n=6)

受试样品	ρ/ (μg · mL ⁻¹)	细胞增殖抑制率/%	
		HeLa	L929
石油醚提取物	500	94.2	99.1
	250	58.0	58.0
	125	21.6	<10
	62.5	15.4	<10
醋酸乙酯提取物	500	95.6	93.3
	250	93.6	98.7
	125	92.4	95.8
	62.5	95.5	99.8
正丁醇提取物	500	89.4	97.2
	250	88.8	99.9
	125	82.9	100.0
	62.5	83.5	95.3

3.2 对化合物 I ~ VIII 的抗肿瘤活性:研究表明聚炔类化合物 falcarindiol 对 HeLa 细胞和 L929 细胞均有一定的抗肿瘤活性;β-蜕皮激素未显示抗肿瘤作用;皂苷类化合物 III ~ VIII,即薯蓣皂苷和偏诺皂苷类化合物均具有一定的细胞毒作用,其中化合物 III、IV、VIII 抗肿瘤作用最强,化合物 VII 最弱(表 3)。

4 讨论

本研究以人宫颈癌 HeLa 细胞和小鼠成纤维 L929 细胞为筛选模型,以抗肿瘤活性为指标,较为系统地对云南重楼不同提取部位和单体化合物进行了抗肿瘤活性的初步研究。结果表明,云南重楼中抗

表 3 云南重楼中各化合物对 HeLa 细胞和 L929 细胞的增殖抑制作用 (n=6)

Table 3 Proliferation inhibition of compounds from *P. polyphylla* var *yunnanensis* on HeLa cells and L929 cells (n=6)

化合物 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	$\rho/$	细胞增殖抑制率/%		化合物 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	$\rho/$	细胞增殖抑制率/%	
		HeLa	L929			HeLa	L929
I	30	43.3	20.1	V	30	46.0	18.0
	10	31.7	16.6		10	28.6	12.6
II	30	-10.6	-13.4	VI	30	48.9	22.7
	10	-11.3	-29.9		10	31.5	16.9
III	30	96.4	97.1	VII	30	9.7	3.5
	10	94.7	90.3		10	8.0	1.5
IV	30	97.1	95.5	VIII	30	97.1	99.4
	10	82.6	87.4		10	82.6	57.6

肿瘤作用的物质存在于提取极性较大的部位,即醋酸乙酯提取物和正丁醇提取物,说明除了已判明的甾体皂苷类活性部位之外,还存在另一个活性部位,且存在于醋酸乙酯提取物中。

云南重楼中化学成分的抗肿瘤作用表明,除了皂苷类化合物, faltarindiol—即聚炔类化合物对 HeLa 细胞、L929 细胞也有一定的抗肿瘤活性,且据文献报道^[10], faltarindiol 对 MK-1 (人胃腺癌细胞)、SW620 (肠癌细胞)、B16 (黑色素瘤) 有很强的抑制作用,值得进一步深入研究。

另外,云南重楼中的 6 个甾体皂苷类化合物 III~VIII 的药理实验结果显示,无论是薯蓣皂苷还是偏诺皂苷都具有一定的细胞毒作用,C-17 位上是否存在羟基对细胞毒作用无明显影响。皂苷元 C-3 位连接糖链时,糖的数目及其连接位置和类型对生物活性起着至关重要的作用,实验结果表明,抗肿瘤作用随糖链的延长和支链的增加而增强,连接两个糖的化合物 IV 和连接 3 个糖的化合物 III、VII 的生物活性明显高于只连接有一个糖的化合物 V; 并且由葡萄糖和鼠李糖组成糖链时,末端糖连接在葡萄糖的

2 位时,细胞毒活性明显强于连在 4 位上,如化合物 IV 和化合物 VI。化合物 III 和 VI 同为偏诺皂苷元,结构不同之处在于化合物 III 的 2 位比化合物 VI 多连接了一个鼠李糖,无论从糖的数目还是位置分析,化合物 III 的抗肿瘤作用应高于化合物 VI,而本实验结果证明了这一推测。

References:

- [1] Hu L G, Liu K M, Lei L G. Notes of *Paris* from Hunan Province of China [J]. *Res Life Sci* (生命科学研究), 2002, 6(3): 250.
- [2] Wu S S, Gao W Y, Duan H Q, et al. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Rhizoma Paridis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(3): 344-347.
- [3] Chen C, Zhou J. Studies on chemical constituents of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1981, 3(1): 89-93.
- [4] Chen C X, Zhou J. Two new seroid saponins of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1992, 14(1): 111-113.
- [5] Indresh K, Seshadri R, Seshadri T R. Constitution of pariphyllin-A and pariphyllin-B, the saponins isolated from the tubers of *Paris polyphylla* [J]. *Indian J Chem*, 1975, 13(8): 781.
- [6] Singh S B, Raghunath S. Furostanol saponins from *Paris polyphylla*; Structures of polyphyllin G and H [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(8): 2079.
- [7] Singh S B, Raghunath S. Furostanol saponins from *Paris polyphylla*; Structures of polyphyllin C, D, E, and F [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(12): 2925.
- [8] Xu X M, Zhong Z C. Studies on chemical constituents of *Paris polyphylla* var. *chinensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1988, 19(6): 242-249.
- [9] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [10] Precautionary tumour Group in Panjin region of Liaoning Province. Primary report on therapy of gastric cancer [J]. *New Chin Med* (新医学), 1973, 4(8): 377.

安胃三号治疗慢性萎缩性胃炎 60 例临床观察

周 玮,王秀娟

(天津市中医药研究院附属医院,天津 300120)

慢性萎缩性胃炎是临床多发病,1978 年世界卫生组织将其列为胃癌前期状态,且发病率有逐年上

升趋势。本院消化科从 2003 年 1 月至 2005 年 6 月应用安胃三号冲剂治疗慢性萎缩性胃炎,取得较好